

Actomyosin 溶液の粘度に関する研究

II. 心筋 Actomyosin の粘度に及ぼす諸種薬物の影響

石 塚 武

札幌医科大学生理学教室 (主任 永井教授)

札幌医科大学口腔外科学教室 (主任 金森教授)

Studies on the Viscosity Change of Actomyosin Solution

II. The Influence of Various Agents on the Viscosity of Heart Muscle Actomyosin Solution

By

TAKESHI ISHIZUKA

Department of Physiology (Chief: Prof. T. NAGAI)

Department of Oral Surgery (Chief: Prof. T. KANAMORI)

Sapporo University of Medicine

前報¹⁾において粘度測定法により、骨格筋 actomyosin 液の粘度に及ぼす pyrophosphate (pyro), adrenaline, monoiodoacetic acid (monoiodo), digitamin, acetylcholine (Ach), 等の薬物の影響を検討した。

今回は前実験に引続いて、心筋 actomyosin (AM) 液の粘度に及ぼす諸種薬物の影響、特に強心配糖体である digitalis 類の影響を検討し、それと合せて骨格筋の AM に著明な粘度変化のあつた pyro 等について比較検討した。

実験方法

実験材料： 犬の心臓を摘出し Ringer 氏液で環流し出来るかぎり血管、心外膜、弁等を除去し、乳鉢で磨砕糊状となし Weber-Edsall 氏液で抽出し一昼夜低温に放置、翌日 0.6 KCl を加えたものを粗 myosin-B として使用、これを 2 回洗滌せるものを前報と同様 myosin-B として使用した。

ATP： 前報¹⁾に準ずる。

粘度測定法： 前報と同じ。

測定温度： 前報と同じく 25°C 及び 0°C で行つた。

使用せる薬物とその終濃度

- | | |
|------------------------|----------------------|
| 1) pyrophosphate | 5×10 ⁻⁴ M |
| 2) adrenaline | 2×10 ⁻⁴ M |
| 3) monoiodoacetic acid | 10 ⁻² M |
| 4) acetylcholin | 10 ⁻² M |
| 5) digitamin | 4 mg/cc |
| 6) strophanthin | 0.03 mg/cc |
| 7) MgCl ₂ | 10 ⁻² M |

なお対照として 0.6M KCl 溶液を使用した、MgCl₂ は 2.25M 使用した。

以上の薬物の pH は digitamin pH 5, adrenaline pH 3, strophanthin pH 5, 以外は pH 7 に補正して使用した。蛋白濃度は特に測定しなかつた。

実験成績

実験 1： 25°C における粗 AM, 精製 AM の粘度に及ぼす諸種薬物の影響。

Fig. 1 に示す如く粗 AM に対して pyro は著明な粘度降下作用を示した。adrenaline, monoiodo, Ach, strophanthin, は粘度に対し影響を示さない。

上記諸種薬物添加後の AM 液は ATP 添加により粘度降下を示す。その際 splitting time は対照に比べて pyro, strophanthin, digitamin, adrenaline, monoiodo を添加した AM 液ではやや延長する傾向が認められた。

Fig. 2 は精製 AM 液に対する粘度変化であるが pyro により粘度はやや降下するのみである。また粗 AM 液に対して粘度降下作用を示さなかつた adrenaline が著明に粘度の降下作用を示し、その降下度は pyro より著明である。他の薬物は粗液の場合と同様に粘度降下作用を認めなかつた。splitting time に関しては pyro, adrenaline, digitamin 等にやや延長が認められた。

Fig. 3 は MgCl₂ 存在下の粗 AM 液に対する薬物の影響で pyro のみが著明に粘度降下をきたし、その他の薬物は影響なかつた。またさらに ATP を添加した場合、明かに粘度降下が認められた。しかし splitting time の途中で

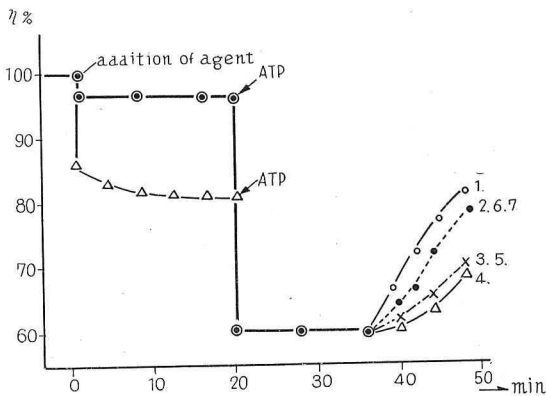


Fig. 1. The effect of chemical agents on the viscosity change of crude actomyosin solution

Abscissa: Time (min).

Ordinate: Relative percent.

Temperature: 25°C.

- | | | |
|------|---------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| ●—2) | digitamin | 4 mg/cc. |
| 6) | monoiodo | 10^{-2} M. |
| 7) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |
| ×—3) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| 5) | acetylcholine | 10^{-2} M. |
| △—4) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |

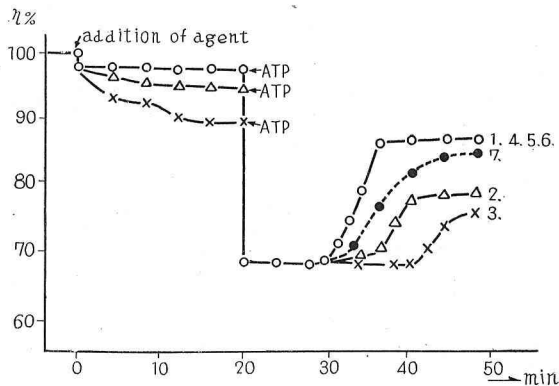


Fig. 2. The effect of chemical agents on the viscosity change of purified actomyosin solution

Abscissa: Time (min).

Ordinate: relative percent.

Temperature: 25°C.

- | | | |
|------|---------------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| 4) | acetylcholine | 10^{-2} M. |
| 5) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| 6) | monoiodoacetic acid | 10^{-2} M. |
| ○—7) | digitamin | 4 mg/cc. |
| △—2) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |
| ×—3) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |

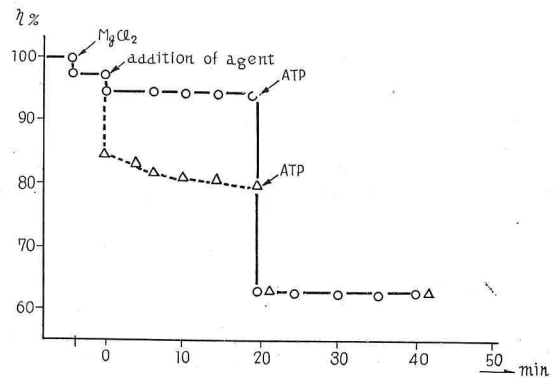


Fig. 3. The effect of chemical agents on the viscosity change of crude actomyosin solution in the presence of $MgCl_2$

Abscissa: Time (min).

Ordinate: Relative percent.

Temperature: 25°C.

- | | | |
|----------|---------------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| 2) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |
| 3) | monoiodoacetic acid | 10^{-2} M. |
| 4) | acetylcholine | 10^{-2} M. |
| 5) | digitamine | 4 mg/cc. |
| 6) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| △—7) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |
| $MgCl_2$ | | 10^{-2} M. |

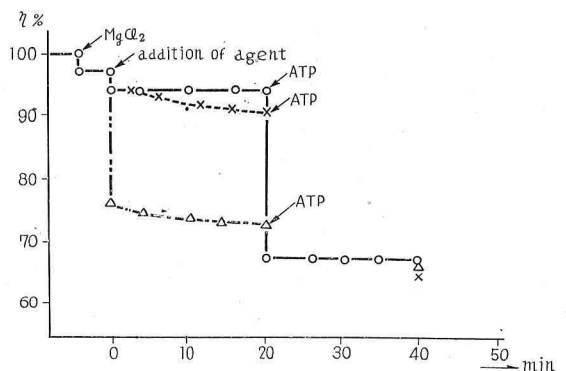


Fig. 4. The effect of chemical agents on the viscosity change of purified actomyosin solution in the presence of $MgCl_2$

Abscissa: Time (min).

Ordinate: Relative percent.

Temperature: 25°C.

- | | | |
|----------|---------------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| 2) | monoiodoacetic acid | 10^{-2} M. |
| 3) | acetylcholin | 10^{-2} M. |
| 4) | digitamin | 4 mg/cc. |
| 5) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| ×—6) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |
| △—7) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |
| $MgCl_2$ | | 10^{-2} M. |

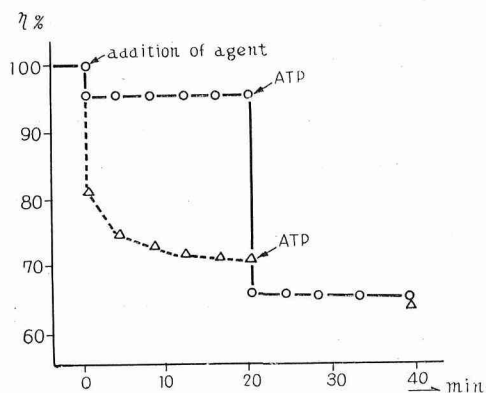


Fig. 5. The effect of chemical agents on the viscosity change of crude actomyosin solution

Abscissa: Time (min).

Ordinate: Relative percent.

Temperature: 0°C.

- | | | |
|------|--------------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| 2) | moniodoacetic acid | 10^{-2} M. |
| 3) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |
| 4) | acetylcholine | 10^{-2} M. |
| 5) | digitamin | 4 mg/cc. |
| 6) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| △—7) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |

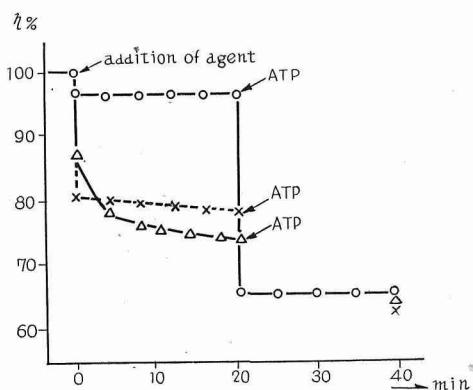


Fig. 6. The effect of chemical agents on the viscosity change of purified actomyosin solution

Abscissa: Time (min).

Ordinate: relative present.

Temperature: 0°C.

- | | | |
|------|---------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| 2) | moniodo | 10^{-2} M. |
| 3) | digitamin | 4 mg/cc. |
| 4) | acetylcholine | 10^{-2} M. |
| 5) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| ×—6) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |
| △—7) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |

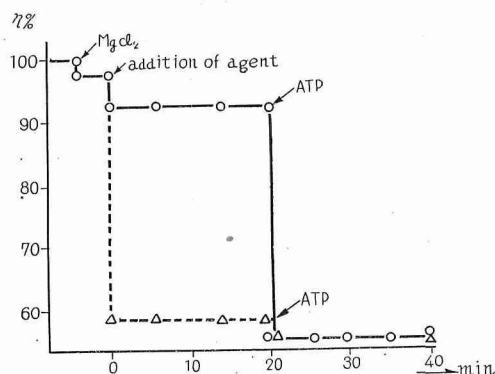


Fig. 7. The effect of chemical agents on the viscosity change of crude actomyosin solution in the presence of $MgCl_2$

Abscissa: Time (min).

Ordinate: Relative percent.

Temperature: 0°C.

- | | | |
|------|---------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| 2) | moniodo | 10^{-2} M. |
| 3) | digitamin | 4 mg/cc. |
| 4) | acetylcholine | 10^{-2} M. |
| 5) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| 6) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |
| △—7) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |
| | $MgCl_2$ | 10^{-2} M. |

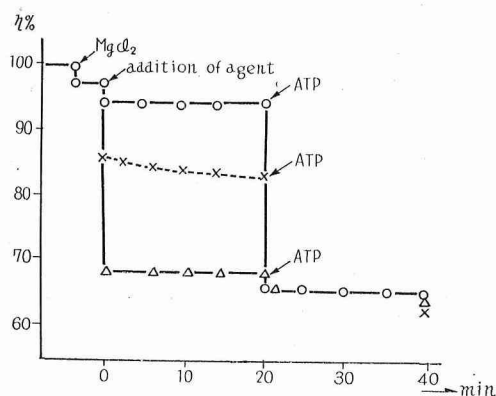


Fig. 8. The effect of chemical agents on the viscosity change of purified actomyosin solution in the presence of $MgCl_2$

Abscissa: Time (min).

Ordinate: Relative present.

Temperature: 0°C

- | | | |
|----------|---------------|-----------------------|
| ○—1) | KCl (0.6 M) | control. |
| 2) | moniodo | 10^{-2} M. |
| 3) | digitamin | 4 mg/cc. |
| 4) | acetylcholine | 10^{-2} M. |
| 5) | strophanthin | 0.03 mg/cc. |
| ×.....6) | adrenaline | 2×10^{-4} M. |
| △—7) | pyrophosphate | 5×10^{-4} M. |
| | $MgCl_2$ | 10^{-2} M. |

実験を打切つたので recovery は言及し得ない。

Fig. 4 は $MgCl_2$ 存在下の精製 AM 液に対する粘度変化で pyro は著明に粘度降下作用を示し、また $MgCl_2$ 存在下粗 AM において作用の認められなかつた adrenaline が粘度降下をきたした。他の薬物の粘度降下作用はやはり認められなかつた。またそれら薬物に対し ATP 添加により何れも同じ値まで粘度降下をきたしたが splitting time に次ぐ恢復については途中で打切つたため、この場合も言及し得ない。

実験2: $0^\circ C$ における粗 AM 液、精製 AM に対する上記薬物の粘度変化に及ぼす影響。

Fig. 5 は $0^\circ C$ 下における粗 AM に対する薬物の影響である。図に見る如く pyro のみが著明に粘度降下作用を示し、 $25^\circ C$ よりも $0^\circ C$ において、その作用が大である。他の薬物には粘度降下作用を認めなかつた。

Fig. 6 は精製 AM における薬物の影響で pyro は著明な粘度降下作用を示し、粗 AM 液で粘度に影響のなかつた adrenaline が pyro に次ぐ著明な粘度の降下作用を示した。他の薬物は粘度降下作用を示さなかつた。

Fig. 7 は $MgCl_2$ 存在下の粗 AM 液における諸種薬物の影響で pyro のみ著明な粘度降下作用を示し、且つその作用は $MgCl_2$ 存在により粘度降下度の増強が認められた。他の薬物はやはり粘度降下作用を示さなかつた。

Fig. 8 は $MgCl_2$ 存在下の精製 AM 液に対する Pyro, adrenaline の影響で、pyro が粗 AM におけるより粘度降下作用は劣るが、かなり著明な粘度降下作用を示し、adrenaline は粗 AM に作用しなかつた (Fig. 7) が、著明な粘度降下をきたした。

比較しながら総括するに、まず心筋より抽出した AM は、骨格筋 AM と同様 ATP の添加により、定型的 U 字型を示すことが認められこのてん質的差はない。

次に digitamin, strophanthin, Ach, monoiido 等には常温、低温、或は Mg^{++} の有無にかかわらず粘度降下作用は認められない。この点に関しても骨格筋 AM と全く同様である。pyro についても骨格筋 AM の場合に見られたと同様な影響が示されたが心筋 AM の方が、その程度は強い。adrenaline については心筋粗 AM では影響なく、骨格筋粗 AM では僅少ではあるが降下作用をもつ、しかし心筋 AM も精製すると降下作用が現われる。

各薬物の心筋 AM 液に対する粘度降下作用を AM の精粗、温度の高低、並に Mg^{++} の有無に関し総括すると Table 1 の如くなる。

表から明かな如く、先ず pyro, adrenaline の作用共、低温において作用増強が認められ、この点に関しては両者は共通である。次に pyro 作用については $MgCl_2$ 影響が精粗、何れの AM においても著明に現われる。但し粗 AM において常温では $MgCl_2$ の有無は、あまり影響がない。しかし $MgCl_2$ の存在しない場合は精製により、むしろ効果の減弱の傾向が認められた。これに反し adrenaline 効果は $MgCl_2$ の有無には無関係で精製による作用増強の傾向が示されている。

また低温による作用増強の低度は pyro の場合に比し、幾分程度が少ない傾向が認められた。

また Ach, digitamin, strophanthin, monoiido は粗 AM、並びに精製 AM に対して常温、低温何れの場合も影響はなかつた。

成績の総括

考 按

以上の成績に示された事実を一部前報¹⁾ 骨格筋の成績と

A) 先人の業績との比較: 心筋 AM 溶液の粘度に及ぼ

Table 1. The Effect of $MgCl_2$ on the Viscosity of Crude and Purified Actomyosin Solution at $25^\circ C$ and $0^\circ C$

		粗 AM				精 製 AM			
		$25^\circ C$		$0^\circ C$		$25^\circ C$		$0^\circ C$	
		Mg (-)	Mg (+)	Mg (-)	Mg (+)	Mg (-)	Mg (+)	Mg (-)	Mg (+)
KCl	(%)	4	5	5	7	3	5	4	6
Pyro	(%)	19	20	29	42	5	27	26	32
Adrenaline	(%)	4	5	5	7	11	8	22	17
Digitamin	(%)	4	5	5	7	3	5	4	6
Strephanthin	(%)	4	5	5	7	3	5	4	6
Monoiodo	(%)	4	5	5	7	3	5	4	6
Ach	(%)	4	5	5	7	3	5	4	6

す影響を著者の如く広範、且つ詳細に検したものはない。ただ、Kuschinsky²⁾が兎心筋 AM につき、著者と同様に強心配糖体の粘度影響を見ているのみである。彼は著者と全く同様の成績を得て、その作用はなく、従つて AM 解離作用はないと述べている。

なお粘度変化以外の心筋 AM 系に関しての研究において digitalis 等の強心剤が AM 系自体に何等かの作用を呈するか否かについての成績は 2~3 あるが、決定的結論はない。即ち Kuschinsky²⁾は兎心筋 AM 系については digitoxin が actin 及び AM の溶解性に变化を与えるが actin の重合には影響を与えないと述べているに反し Snellman³⁾は digitalis の心臓作用を actin の重合と関係づけ、該薬物が deaminase 作用を阻止するとともに重合促進を齎らすといい、また Horvath⁴⁾、Wollenberger⁵⁾もこの見解と同様の報告を行つている。

なお骨格筋の AM 溶液に及ぼす粘度効果⁶⁾については、本報で述べた如き研究は著者⁷⁾ Mommaerts⁶⁾、Waser⁷⁾があるが、このことに関しては次項において述べる。

B) 骨格筋 AM と心筋 AM: 本成績で見える如く digitamin, strophanthin, Ach, monoioido 等は骨格筋 AM 液にその粘度影響がなかつたと同様に心筋 AM 液にも認められなかつた。pyro については心筋粗 AM は、骨格筋粗 AM に比し、その粘度降下が強いが精製することにより骨格筋粗 AM に類似するに至る。adrenaline については心筋粗 AM は骨格筋粗 AM で認められた粘度降下作用を欠いているが、精製することにより現われてくる。以上の比較において一応注目すべきは pyro 及び adrenaline について的心筋 AM、骨格筋 AM に対する影響の差であろう。しかしこの差は要するに本質的なものではなく量的な差であつて、しかもその差が上記の如く精製によつて消失する傾向を示している。従つて著者はこれ等著者の粘度的研究の成績の比較から心筋 AM、骨格筋 AM には本質的な差はないと考える。換言すれば以上の成績の量的差の原因は AM をとりまくいわゆる regulating substase の差であろう。なおこの精製の意味は前報⁷⁾でも述べたが、その要点を D 項でもまとめてある。

また Waser⁷⁾が骨格筋 AM における実験で *in vivo* において心筋には作用するが骨格筋 AM には作用しない強心配糖体が、その粘度を降下するといつている。また著者、及び Kuschinsky の実験の如く心筋自体の粘度には該強心配糖体は何等作用を示さない。このことは AM をとりまく regulating substase の種類、及びその状態如何により AM が、その性質を変えること、即ち AM 自体には actin に類似するが重合能及び myosin との結合能を欠く点でこれと異なる一種の蛋白質が結合するという Gelotte⁸⁾の示し

た事実と一致する。

以上の著者の成績の考察、及び文献的考察から、著者は粘度的研究を基礎にして心筋 AM、骨格筋 AM には本質的な差はないと結論する。

なお心臓の actin 重合につき Horvath⁴⁾、Wollenberger⁵⁾、Snellman³⁾が、また心臓の myosin 及び AM の物理化学的性質につき Snellman & Gelotte⁹⁾、Kuschinsky²⁾がそれぞれ、強心配糖体の影響を認めていることが一応問題となるが、これ等は確定的結論ではなく、例えば actin 重合に関しては Kuschinsky²⁾は、それを否定している。これ等について前述せる如き AM 系の精製の程度や、digitalis 薬の種類、純度、及び用量等の差を問題とするのが妥当であらう。なお強心配糖体と AM 系について次項に述べてある。

C) 強心配糖体と AM: 強心配糖体が contractile element である AM-ATP system に直接作用するや否や、即ちそれを取りまく regulating system を介して作用するや否やは非常に興味ある問題である。

B 項で述べた如き心筋 AM についての著者の digitamin, strophanthin, 及び Kuschinsky²⁾の digitoxin に関する成績と Waser⁷⁾の骨格筋 AM についての digitamid A, の成績との考察によれば、強心配糖体の直接作用の見解は否定的となる。Szent-Györgyi¹⁰⁾も心臓における *staire case* と digitalis 作用との関係から、この見解をとつている。

しかしながら前述せる如く一定した成績となつてはいないが、心筋 actin はその重合が強心配糖体により促進、或は強化するという事実、及び心筋 myosin 及び AM が骨格筋 AM と異なり、強心配糖体により、その物理化学的性質が変わるという事実は上記見解をとるに際し、またひいては B 項ですでにふれた如き心筋 AM、骨格筋 AM について本質的な差を認めないという態度を著者がとるに際し、一応考慮にあたする。

今、若し強心配糖体と心筋 AM との直接作用、または特殊関係を認めるとしこれと AM 液の粘度変化についての永井¹¹⁾の見解、即ち AM の粘度降下を弛緩に対応するという見解とを考え合せるならば、強心配糖体は直接作用を有するが、しかし弛緩には影響しないで、むしろ収縮に影響するという可能性も除外出来ない。このことは一応外見上 *in vivo* における心臓に対する強心配糖体の作用とも一致する。かく考えてくれば、心筋 AM に対する強心配糖体の直接作用の有無の決定、しいては心筋 AM、骨格筋 AM の本質的な差の有無の決定は心筋 AM、骨格筋 AM の Superprecipitation に及ぼす強心配糖体の実験的研究から解決される可能性がある。しかしここにおいても AM の sample, 純度、用いる強心配糖体の種類、及び用量が問題

とならう。

D) 心筋 AM について精粗の問題: このことは、すでに B 項で一部ふれたことであるが、粗 AM 液と精製 AM の関係について、その要点をまとめた。

本実験成績で知る如く、粗 AM と精製 AM では digitamin, Strophanthin, moniodo, Ach 等は粘度降下作用にその差を認めなかつたが、pyro においては、精製 AM よりも粗 AM ではかなり著明に粘度降下作用を認め、反対に粗 AM で粘度降下を来たさなかつた adrenaline が精製 AM で著明な粘度降下を認めた。

AM の精製操作につき、各種介在物質の除去、特に Mg^{++} が除去される事実が認められ (宮崎未刊¹²⁾、また、抽出液 Weber-Edrsall 氏液) に含まれる $NaHCO_3$ が除去されることの十分な可能性、及び AM の cohesion の強化等が考えられる。これ等のことは前報¹⁾でも述べてある。そして心筋 AM についての精粗に関する著者の成績はこれから説明されることは、すでに B 項で述べた。ただ B 項で心筋 AM、骨格筋 AM を比較した時に述べた如く AM が精製するものとお且つ骨格筋粗 AM と同様な状態であるということが著者の成績から判断される点が注目される。従つて心筋から AM を抽出し、精製する場合、この点は考慮を有するであろう。この心筋の難精製性は心筋が骨格筋と異なり自働性を有し、従つてかかる物質系が存在し、その物質の豊富なが、その原因であるかも知れない。

結 論

A) 心筋 AM 溶液粘度に対する諸種薬物の影響を調べた

1) Ach, digitamin, strophanthin, moniodo は 25°C, 0°C ともに粘度に及ぼす影響はなかつた。

2) 25°C, 0°C ともに粗 AM に pyro のみ著明に粘度降

下をきたした。また精製 AM に対しては pyro の他に粗 AM で認められなかつた adrenaline が著明な粘度降下作用を示した。

3) 温度影響については精粗 $MgCl_2$ の有無、何れの場合においても、低温の方が著明になる。

4) 精粗ともに $MgCl_2$ 存在により pyro の粘度降下作用が増強されるのが認められた。

B) 粘度的研究を基礎にして、AM は心筋と骨格筋において、本質的差はないと考える。

C) 強心配糖体である digitamin, strophanthin は心筋 AM には直接作用がないと考える。

(昭和 31. 1. 11 受付)

文 献

- 1) 石塚: 札幌医誌 (未刊).
- 2) Kuschinsky, G., et al: Naturwiss. **33**, 529 (1951).
- 3) Snellman, O., & Gelotte, B: Nature **165**, 604 (1950).
- 4) Horvath, I. et al: Nature **164**, 792 (1949).
- 5) Wollenberger, A.: Experientia **10**, 311 (1954).
- 6) Mommaerts, W. F. H. M.: J. Gen. Physiol **31**, 361 (1948).
- 7) Waser, P. G. et al.: Helv. Physiol. Acta **12**, 12 (1954).
- 8) Gelotte, B.: Nature **168**, 561 (1951).
- 9) Snellman, O., & Gelotte, B.: Exptl. Cell. Research. **1**, 234 (1951).
- 10) Szent-Györgi, A.: Chemical Physiology of Contraction in Body & Heart Muscle, Acad. Press, New York (1953).
- 11) 永井・他: 札幌医誌 **5**, 154 (1954).
- 12) 宮崎: 未刊.

Summary

A) The effect of chemical agents on the viscosity of actomyosin solution extracted from heart muscle was studied. The results were as follows.

1) Ach, digitamin, strophanthin and monoiodoacetic acid showed no effect on viscosity drop of actomyosin solution at 0°C or 25°C.

2) Pyrophosphate caused the viscosity of crude actomyosin solution to drop either at 25°C or 0°C. The effect of adrenaline appeared only in the case of purified actomyosin.

3) With reference to the above, the viscosity drop is invariably intense at lower temperatures regardless of the presence or absence of $MgCl_2$ or its grade of purification.

4) The effect of pyrophosphate was enhanced by the presence of $MgCl_2$.

B) Based on the results as stated above, it is concluded that there are no characteristic differences between the actomyosin extracted from the heart muscle and that from the striated muscle.

C) Digitamin and strophanthin had no direct effect on the actomyosin of heart muscle.

(Received Jan. 11, 1956)